

8 種類の食用豆類に含まれるポリフェノールと抗酸化活性

小嶋道之、森田武志、齋藤優介、西繁典

(受理：2006 年 4 月 28 日)

Polyphenols and their antioxidative activities in 8 kinds of edible beans

Michiyuki Kojima, Takeshi Morita, Yusuke Saito and Shigenori Nishi

摘要

8 種類の食用豆類に含まれるポリフェノールと抗酸化活性を比較した。豆類からの連続的な 3 段階の抽出法は、実験室で次のようにして行った。豆類に温水(50℃)を加え、5 時間浸漬(抽出液 1)し、その後種皮のみを採取して水を加え、1 時間、加熱抽出した(抽出液 2)。最後に、加熱抽出後の種皮に 5%トリフルオロ酢酸含有のエタノールを加えてさらに 1 時間、種皮に強く結合しているポリフェノールを加熱抽出した(抽出液 3)。全ての抽出液にポリフェノールを含んでいたが、含まれるポリフェノール量は、豆類種実の大小や種皮色との間で相関関係は認められなかった。アズキおよび赤インゲンマメの抽出液 1 には、ポリフェノールが多く溶出され、特にアズキの抗酸化活性が最も高かった。抽出液 2 にポリフェノールが多く溶出された豆類は、コクリョクトウ、リョクトウ、ソラマメ、赤インゲンマメであり、エンドウやダイズのそれはごく微量であった。また、抽出液 3 にポリフェノールを多く含んでいたのは、コクリョクトウ、リョクトウ、クロダイズ、赤インゲンマメ、ソラマメで、種皮に強く結合したポリフェノールを多く含有する豆類といえる。抽出液 1 に含まれるポリフェノールの熱安定性と pH 安定性を検討したところ、4 時間の加熱を続けても、豆類抽出液の活性低下はほとんど認められなかった。また、ダイズ、エンドウ、アズキ、コクリョクトウ抽出液 1 (pH6.5) の抗酸化活性は、pH2.0 では同じ～若干上昇したが、pH10.0 では低下した。塩基性条件でのアズキとエンドウの活性低下は、特に顕著であった。また、ダイズ、クロダイズおよびリョクトウ抽出液 1 の β -カロチン退色抑制能は低かったが、赤インゲンマメ、コクリョクトウ、エンドウ、アズキのそれは高かった。

キーワード：ポリフェノール、抗酸化活性、熱安定性、pH 安定性、豆類

緒言

植物の二次代謝成分であるポリフェノール類は、天然の抗酸化剤として注目されている成分の一つである。ポリフェノールには多くの種類があり、低分子化合物と高分子化合物が存在する。前者の代表である茶カテキンは

多様な用途に使われている¹⁾が、高分子化合物の代表であるタンニン渋味成分で、消化にも影響を与えるなど負のイメージがある²⁻⁵⁾。また植物側からすると、ポリフェノール類は外敵である昆虫類に対して毒性や摂食阻害を与えたり、微生物の感染を防ぐなど植物にとって

帯広畜産大学畜産科学科食料生産科学講座食品栄養科学

Laboratory of Food Nutritional Science, Department of Food Production Science, School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, (Hokkaido, 080-8555,) Japan

の生体防御的な役割をしている化合物でもある⁶⁾。食品加工物の保存には抗酸化剤が添加されるが、合成抗酸化剤は肺や肝臓などに発癌の危険性が指摘されており⁷⁾、食品の用途に適した新たな天然抗酸化剤の探索が活発に研究されている⁸⁻¹²⁾。しかし、野菜類などは、栽培適性による品種改良が進み、野生種のポリフェノール量に比べて低いものが増えてきている。また、食用の豆類には、多種多様なポリフェノール；フラボノイド（フラボン類とアントシアニン類）や縮合タンニン（プロシアニジン類等）などが多く含まれていて¹³⁻¹⁶⁾、それらは種皮に多く存在している。これらのポリフェノール類は渋味やエグ味成分であることから、調理・加工の過程で量を調節する工夫が行われてきた¹⁷⁾。最近、豆類ポリフェノールにも注目が集まっているが、浸漬水や煮汁など、同一加工条件で調製された抽出液を用いてポリフェノール含量やその特性に関する比較は行われていない。今回は、食用の8種類の豆類について、浸漬・加熱の工程で生じる各抽出液に含まれるポリフェノール含量や抗酸化活性の比較を行い、加熱やpHによる抗酸化活性への影響についても明らかにすることを目的とした。

実験方法

1. 実験材料

市販の8種の食用豆類；コクリョクトウ（毛蔓小豆, black matpe, *Vigna mungo* (L.) Hepper）、エンドウ（豌豆, pea bean, *Pisum sativum* L.）、アズキ（小豆, Adzuki bean, *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et H. Ohashi）、リョクトウ（緑豆, green gram, *Vigna radiata* (L.) R. Wilez.）、クロダイズ（黒大豆, black soybean, *Glycine max* (L.) Merr.）、赤インゲンマメ（赤隠元豆, red kidney bean, *Phaseolus vulgaris* L.）、ダイズ（大豆, soybean, *Glycine max* (L.) Merr.）、ソラマメ（空豆, broad bean, *Vicia faba* L.）は、実験材料として用いた。

2. 豆類種子に含まれるポリフェノールの抽出

市販の完熟種子は、水を加えて 50℃で 5 時間静置して得られた浸漬水 (Ex-1)、続いて種皮のみとした後に新しい蒸留水を加えて 100℃で 1 時間加熱して抽出液

(Ex-2) を調製した。また、種皮に強固に結合しているポリフェノールは、5%トリフルオロ酢酸 (TFA) 含有エタノールを加えて 100℃で 1 時間加熱して抽出液 (Ex-3) を調製した。得られた各抽出液は、それぞれ濃縮乾固もしくは凍結乾燥後に蒸留水で 10mg/ml 濃度に調製して分析に用いた。また、標品の抗酸化物質も同様の濃度で使用した。

3. 抗酸化・ラジカル消去活性の測定

抗酸化・ラジカル消去活性は、1, 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジルのラジカル消去活性 (DPPH法¹⁸⁾) とニトロブルーテトラゾリウム法 (NBT法¹⁹⁾) で行った。各豆類の抽出液は、凍結乾燥して一定量 (10mg/ml) に溶解して、抗酸化活性を測定した。DPPHラジカル消去活性の測定には抽出物 250 μ g (25 μ l) を用い、スーパーオキシド消去活性の測定には抽出物 50 μ g (5 μ l) を使用した。すなわち、DPPH法は各抽出液 25 μ l (コントロールでは蒸留水を使用) に 2ml の 0.5mM DPPHエタノール溶液と 2ml の 100mM トリス塩酸バッファー (pH7.4) を加えて混和 15 分後に 520nm の吸光度を求め、対照 (抗酸化性物質無添加) の吸光度を 100 とする割合で表示した。また、NBT法は、各抽出物 50 μ l を用い、スーパーオキシド生成系を用いた時の反応阻害から抗酸化活性を求めた。生じたスーパーオキシドと NBT との反応により生じたホルマゼンを測定 (560nm) して、抗酸化物質を加えなかったものを対照 (100) として表示した。キサンチンオキシダーゼ懸濁液は、和光純薬工業社製を使用した。 β -カロチン退色抑制能は、リノール酸/ β -カロチン系での 470nm の変動値より割合で求めた²⁰⁾。全ポリフェノール量は Folin-Ciocalteu 法²¹⁾ により求め、検量線は (+) -カテキンを用いて作成した。

4. 豆類抽出液の熱安定性および pH 安定性の測定

熱安定性および pH 安定性は、各種子抽出液の Ex-1 を用いた。Ex-1 の熱安定性は、密閉系チューブに移した Ex-1 を、105℃のオーブンで保持し、経時的に取り出した反応液の抗酸化・ラジカル消去活性より求めた。また、pH 安定性は、Ex-1 に 1N HCl を加えて pH2.0,

Polyphenols and their antioxidative activities in 8 kinds of edible beans

1 N NaOH を加えて pH10.0 に調整して、それぞれ直ちに抗酸化活性を測定して求めた。

実験結果および考察

1. 食用豆類に含まれるポリフェノール量

種子に含まれるポリフェノールを抽出する方法としては、粉碎してアルコール類で抽出する方法がよく用いられる^{15, 17, 22)}。しかし、一般に豆類は、加熱して利用される食材であることから、本実験では浸漬・吸水および加熱した時に溶出してくるポリフェノール量およびそれらの抗酸化活性について検討した。全抽出物の凍結乾燥重量は、種子重に対して 2.4~7.7% の範囲であったが、量の多少は種実の大小には関係なく、クロダイズやエンドウの抽出物が多かった（クロダイズ 7.7% およびエンドウ 6.2%）。全ポリフェノール量の多い順に、ソラマメ、アズキ、インゲンマメ、リョクトウ、コクリョクトウ、クロダイズ、エンドウおよびダイズであった。ダイズやエンドウの全ポリフェノール量は、種子に対して 0.06% と低かったが、他の豆類のそれは約 4~10 倍であった（Table 1）。各豆類抽出物に含まれるポリフェノール含量は豆類の大小や種皮色の色調、濃淡には関係がなく、豆類の種類により相違のあることから、各豆類の特徴であると判断した。

実験方法 1. に記した 3 段階の抽出法で得られた抽出物に含まれるポリフェノールは、ソラマメを除き、浸漬水；Ex-1 に最も多く含まれていた。また、加熱抽出液；Ex-2 のポリフェノール量が多かったのは、ソラマメ、コクリョクトウおよびリョクトウなどで、物理的に種皮をはがすことで種皮から多くのポリフェノールが溶出されたと判断した。Ex-1 と Ex-2 の合計は、豆から溶出可能なポリフェノールであり、煮汁全体のポリフェノール量に相当する。全ポリフェノール量が多い豆類は、順

にソラマメ、アズキ、コクリョクトウ、インゲンマメ、リョクトウで、次いでクロダイズ、エンドウおよびダイズであった。種皮残査を酸含有エタノールで加熱抽出して得られた種皮に強固に結合したポリフェノール（種皮結合型ポリフェノール）は、ダイズやエンドウで全ポリフェノールの 6~7%、アズキでは 15%、それら以外の豆では 22~28% であることが示された。

豆類から抽出したポリフェノール成分は、ダイズ類 2 種、リョクトウ類 2 種の間では類似していたが、他の豆類間では顕著に異なっていた。ダイズ類の主要なポリフェノールはゲニステイン、エンドウではケルセチン配糖体、アズキではカテキングリコシドとルチン、インゲンマメではシアニジングリコシドなどであった^{2, 12, 13)}。

2. 豆類抽出液 Ex-1 の熱安定性および pH 安定性

各豆類抽出液；Ex-1 の抗酸化活性の熱安定性について検討したところ、1 時間の加熱では調べた全ての豆類抽出液の抗酸化活性に顕著な変動は認められなかった。しかし、2~4 時間の継続した加熱により、ダイズ、リョクトウ、コクリョクトウ、エンドウ種子抽出液の抗酸化活性は、非加熱のものよりも値が若干高くなった（Table 2）。その理由として、加熱による重合体の生成が考えられるが、それらの構造解析などは今後の課題である。

各豆類抽出液；Ex-1 の pH は、全て pH6.5 前後であった。各抽出液 Ex-1 の pH を 2.0 あるいは 10.0 に調整後、抗酸化・ラジカル消去活性を測定したところ、ダイズ、コクリョクトウ、エンドウおよびアズキ種子抽出液は、pH2.0 の酸性側の方が中性域よりも若干活性が高かった（Table 3）。しかし、pH10.0 の塩基性側に調整した Ex-1 では、全ての抽出液の抗酸化活性が低下した。特にアズキやエンドウの活性低下は顕著であった

Table 1 Polyphenol contents in each extract (mg) from 100g beans.

Extracts	Black matpe	Pea	Adzuki bean	Green gram	Black soy bean	Red kidney bean	Soybean	Broad bean
	(Black) ¹⁾	(Light yellow)	(Red)	(Green)	(Black)	(Red)	(Light yellow)	(Brown)
Ex-1	130.6±0.4	56.8±0.2	247.4±0.4	130.8±0.4	122.8±1.8	190.6±0.4	50.0±0.2	12.9±0.4
Ex-2	114.8±4.0	2.4±0.4	20.4±0.8	70.0±1.0	33.6±1.4	47.2±1.0	3.4±0.2	450.1±14.2
Ex-3	93.2±4.0	4.4±1.0	45.0±0.8	71.2±2.2	62.0±1.6	67.0±4.0	3.0±0.4	136.1±0.7
Total	338.6±2.8	63.6±0.6	313.0±0.8	272.0±1.2	218.4±1.6	305.6±1.8	56.2±0.2	599.0±5.1

¹⁾ Seed coat color is shown in the parenthesis.

Table 2 The thermal stability of Ex-1 for the heating.

Species	Heating time (min)		
	60	120	240
Black matpe	0.99±0.02	1.08±0.02	ND
Pea	0.86±0.01	1.02±0.02	2.19±0.04
Adzuki bean	0.99±0.02	0.94±0.08	0.94±0.06
Green gram	2.44±0.10	2.46±0.05	ND
Black soybean	0.98±0.01	0.95±0.03	0.95±0.02
Red kidney bean	0.97±0.02	1.32±0.03	0.87±0.04
Soybean	1.86±0.09	10.42±0.13	13.53±0.14
Broad bean	0.92±0.02	0.90±0.02	1.38±0.02

Each value is expressed as a relative activity value for DPPH radical scavenging activity at heating time 0. Values are means± standard deviation (SD), n=3. ND: not determined.

Table 3 The pH stability of Ex-1 in acidity and alkalinity.

Species	pH 2.0	pH 10.0
Black matpe	1.13±0.05	0.71±0.07
Pea	1.57±0.07	0.43±0.03
Adzuki bean	1.19±0.01	0.14±0.03
Green gram	0.94±0.05	0.59±0.07
Black soybean	0.89±0.07	0.69±0.02
Red kidney bean	0.86±0.03	0.86±0.01
Soybean	1.67±0.40	0.95±0.07
Broad bean	1.07±0.01	0.49±0.04

Each value is expressed as a relative activity value for DPPH radical scavenging activity in pH6.5. Values are means± standard deviation (SD), n=3.

(Table 3)。これらの結果は、pHの変動は活性構造に影響を与える可能性を示している。また、酸性域でのポリフェノール抽出が有効であることも示唆している。一般に色素成分は、pHにより色調変動することが知られている^{12,13)}。今回得られた抽出液のpHを酸性や塩基性に変えた時の色調は、豆の種類により顕著に異なったが、含まれるポリフェノール成分により色調変化が起きていると考えられる。今後、pHにより変化するポリフェノール・色素成分の構造変換の解析が期待される。

3. 豆類抽出液の抗酸化活性

8種類の豆から3段階の方法で得られた抽出物の抗酸化活性を比較する目的で、10mg/ml (w/v) とした水溶液の抗酸化活性を比較したところ、浸漬水；Ex-1 ではアズキ抽出液の活性が最も高かった (Fig. 1)。抽出液；Ex-2 では、コクリョクトウ、リョクトウ、赤インゲンマメ、ソラマメの抗酸化活性が高かったが、クロダイズやアズキのそれは約半分程度の活性、エンドウやダイズ

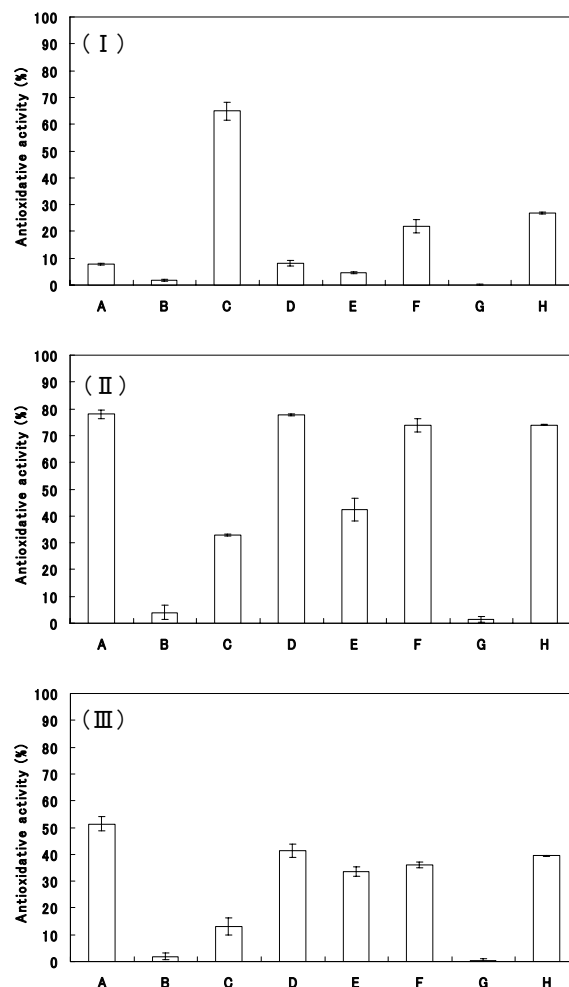


Fig. 1 The comparison of the antioxidative activity of pulse extraction liquid. 8 kinds of beans, A; Black matpe, B; Pea, C; Adzuki bean, D; Green gram, E; Black soybean, F; Red kidney bean, G; Soybean, H; Broad bean were used. By describing method, 3 kinds of extraction, (I) Ex-1 (II) Ex-2, (III) Ex-3 were prepared from each pulse.

のそれはごくわずかであった。また、Ex-2 の活性が高かった豆類は、種皮に強固に結合していて酸含有の熱エタノールで溶出された抽出液；Ex-3 も高い抗酸化活性が認められた。また、8種類の豆類抽出液；Ex-1, Ex-2, Ex-3 に含まれるポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性との相関係数を求めたところ、 $r^2=0.824$ を示した。また、NBT法におけるスーパーオキシド消去活性とポリフェノール含量との相関係数は、 $r^2=0.851$ を示した。すなわち、両者ともに顕著な正の相関関係が認められた。これらの結果は、ダイズやエンドウ抽出液の抗酸化活性は低いけれど、それ以外の6種の豆類抽出液には高い抗酸化活性を示す化合物が存在すること、加熱抽出だけでは種皮から溶出しない抗酸化化合物が種皮に結

Polyphenols and their antioxidative activities in 8 kinds of edible beans

合して存在することを示唆している。また、利用しやすく抗酸化活性の高いポリフェノールを多く含む豆類抽出液は、アズキ浸漬液；Ex-1 であると判断した。 β -カロチンは脂溶性ビタミンの一種で、橙黄色の水溶液は非常に不安定で、光条件下では数時間で顕著に退色する²⁰⁾。この β -カロチン色素の退色抑制能を豆類抽出液；Ex-1 を用いて検討したところ、アズキ、キントキおよ

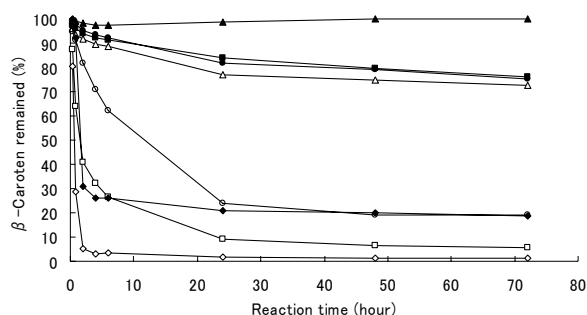


Fig.2 The discoloration inhibiting of β -caroten by addition of the Ex-1 from 7 species of bean. Distilled water(□), black mame(●), pea bean(△), Adzuki bean(▲), green gram(○), black soybean(◆), red kidney bean(■), and soybean(◇).

びコクリョクトウ抽出液は、光条件下で24時間後の β -カロチン量は80%以上が残存していて、高い β -カロチン退色抑制能が認められた (Fig. 2)。ソラマメ抽出液の効果については検討していないが、ダイズ、クロダイズおよびリョクトウ抽出液の β -カロチン退色抑制能は低かった。これらの活性成分の候補は、カテキン誘導体やケルセチン誘導体などのポリフェノールと推定しているが、活性と化合物との構造相関を明確にするためには物質の分離精製が必要であり、今後の課題である。

謝辞：この研究は日本豆類基金協会の資金援助を受け、帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環として行った。

引用文献

- 1) 村松敬一郎, 小国伊太郎, 伊勢村護, 杉山公男, 山本(前田)万里, 茶の機能-生体機能の新たな可能性-, 学会出版センター (2002) .
- 2) Nakabayashi, T., Chemistry of tannine in tropical crops., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **35**, 790-801 (1988).
- 3) Ariga, T. and Asano, Y., Occurrence of astringent

oligomeric proanthocyanidins in legume seeds., *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2705-2708 (1981).

- 4) Ariga, T. and Asano, Y., Isolation, identification and organoleptic astringency of dimeric proanthocyanidins occurring in Adzuki beans., *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2709-2712 (1981).

- 5) Aw, T-L. and Swanson, B.G., Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality., *J. Food Sci.*, **50**, 67-71 (1985).

- 6) Nomura, M. and Itioka, T., Effects of synthesized tannin on the growth and survival of a generalist herbivorous insect, the common cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae)., *Applied Entomology and Zoology*, **37**, 285-289 (2002).

- 7) Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., and Ogino, T., Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats., *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 343-352 (1983).

- 8) McMurrough, I., Loughrey, M.J., and Hennigan, G.P., Content of (+)-catechin and proanthocyanidins in barley and malt grain., *J. Sci Food Agric.*, **34**, 62-72 (1981).

- 9) Ariga, T., Koshiyama, I., and Fukushima, D., Antioxidative properties of procyanidins B-1 and B-3 from Adzuki beans in aqueous systems., *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2717-2722 (1988).

- 10) Jorge, M., Silvia, R.D., Darmon, N., Fernandez, Y., Mitjavila, S., Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds., *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1549-1552 (1991).

- 11) Mitscher, L.A., Jung, M., Shankel, D., Dou, J.H., Steele, L., Pillai, S.P., Chemoprotection : a review of the potential therapeutic antioxidant properties of green tea (*Camellia sinensis*) and certain of its constituents., *Med. Res. Rev.*, **17**, 327-365 (1997).

- 12) Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S., Osawa, T., Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L., *J Agric Food Chem.*, **42**, 248-251 (1994).

- 13) Yoshida, K., Sato, Y., Okuno, R., Kameda, K., Isobe, M. and Kondo, T., Structural analysis and measurement of

anthocyanins from colored seed coats of *Vigna*, *Phaseolus*, and *Glycine legments*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 589-593 (1996).

14) Kojima, M., Suzuki, N., Ohnishi, M., Ito, S., Changes in antioxidative activity and tocopherol contents during germination of Adzuki beans., *J. Jap. Society Food Science and Technology*, **44**, 144-148 (1997).

15) Martin, L.P., Hagerman, A.E. and Butler, L.G., Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and mung beans., *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 459-461 (1980).

16) Ariga, T., Hamano, M., Radical scavenging action and its model in procyanidins B-1 and B-3 from Adzuki beans to peroxyl radicals., *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2499-2504 (1990).

17) Hatai, A., Okuse, I., Saga, K., Nagaoka, Y., Comparative studies on the extraction methods of phenolic compounds by methanol and the compositional differences within the seed coat and the cotyledon in Adzuki beans., *J. Cookery Sci. Japan*, **29**, 109-114 (1996).

18) Blois, M.S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical., *Nature*, **181**, 1199-1200 (1958).

19) De-Rosa, G., Duncan, D.C., Keen, C.L. and Hurley, L., Evaluation of negative staining technique for determination of CN-insensitive superoxide dismutase activity., *Biochem. Biophys. Acta.*, **566**, 32-39 (1979).

20) 津志田藤二郎, 鈴木雅博, 黒木柁吉, 各種野菜類の抗酸化性の評価および数種の抗酸化成分の同定, 食科工, **41**, 611-618 (1994).

21) Singleton, V.L., Rossi, J.A.Jr., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic -phosphotungstic acid reagents., *Am. J. Enol. Vitic.*, **15**, 144-158 (1965).

22) 福場博保, 小豆のタンニンについて, 豆類加工技術研究会報, **11**, 1-31 (1987).

small quantity of bean was soaked in hot water (50°C) for 5h, and the hot water fraction was collected (Extract 1). Then, the seed coats were separated, fresh water added to the seed coats, and the mixture boiled for 1h. The water fraction was collected (Extract 2). The boiled seed coats were heated for 1h with 5% trifluoroacetic acid containing ethanol in order to extract the polyphenols that were tightly bound to the seed coats (Extract 3). All extracts contained polyphenols. There was no correlation between the amount of polyphenol in a bean type and bean size or seed coat colour. Extract 1 from Adzuki and red kidney beans contained large amounts of polyphenols. In particular, Extract 1 from Adzuki beans had the highest antioxidative activity. Extract 2 from black matpe, green gram, broad bean, and red kidney bean also contained large amounts of polyphenols, whereas those from pea and soybean contained only small amounts. Large amounts of polyphenols were stripped from the seed coats (Extract 3) from black matpe, green gram, black soybean, red kidney bean, and broad bean. The activities of polyphenols in Extract 1 from all beans hardly decreased even though they had been heated for 4h. Antioxidative activities of Extract 1 from soybean, pea, black soybean, and black matpe at pH 2.0 were identical to or slightly higher than those at pH 6.5, whereas those at pH 10.0 were lower than those at pH 6.5. The activities of Extract 1 from Adzuki beans and peas decreased markedly at high alkalinity. However, β -caroten discoloration was poorly suppressed in Extract 1 from soybeans, black soybeans, and green grams, whereas discoloration suppression was high for Extract 1 from red kidney beans, black matpes, peas, and Adzuki beans.

Keyword : polyphenol, antioxidative activity, thermal stability, pH stability, pulse

ABSTRACT

The antioxidative activities of polyphenols found in 8 kinds of edible bean seeds were compared. Three extracts were successively prepared from each kind of bean as follows. A

Res. Bull. Obihiro., 27(2006):23~28